穿刺针直径及校准方法对叶片穿透力机械强度的影响

李红燕，欧美景，赵秋菊，李佳蔚*

（广西大学林学院，亚热带农业生物资源保护与利用国家重点实验室，南宁 530004）

摘要：叶片穿透力强度是反映叶片机械抗性的重要指标之一，但最终结果受到针直径与校准方法的影响。为探究不同穿刺针直径及校准方法对叶片穿透力测定的影响，该文对比研究了广西大学校园中 30 种具平行脉单子叶植物与具网状脉双子叶植物的叶片穿透力在不同直径穿刺针测定与校准条件下的差异及该差异与功能性状的相关性。结果表明：（1）利用穿刺针周长、横截面积及叶片厚度等进行校准，不同校准方式下不同直径穿刺针测定的叶片穿透力不同。（2）不同校准方式下，利用 3 种直径穿刺针测到的穿透力之间差异不同，其中，在只利用穿刺针周长和利用针周长与叶片厚度校准后，不同粗细穿刺针之间的叶片穿透力无显著差异；在只利用叶片厚度校准时，穿刺针越粗，穿透力越大；在只利用穿刺针面积和利用针面积与叶片厚度校准后，穿刺针越粗，穿透力越小。单子叶植物 3 种不同直径穿刺针的穿透力均大于相同粗细穿刺针下双子叶植物的穿透力。（3）不同校准方式下 3 种直径穿透力之间的差异与叶片性状的相关性有所不同，叶脉类型、叶片密度、比叶重、角质层厚度和叶脉密度可能是 3 种直径穿透力之间差异产生的结构影响因素。综上所述，利用不同直径穿刺针测定及不同校准方式下对不同叶脉类型植物的叶片穿透力具有不同影响，叶片穿透力测定过程中需对穿刺针直径及校准方法进行合理地选择和统一，建议测定叶片穿透力时，这 3 种针中，直径为 0.5 mm 的穿刺针应用于叶脉密度较大、比叶重较小的叶片测定，但不适用于较为坚硬的叶片，直径为 2 mm 的穿刺针不适用叶脉密度较大、比叶重较小的叶片，选择直径为 1 mm 的穿刺针并利用其周长进行校准较为合理。

关键词：叶片穿透力，穿透力差异，叶片密度，比叶重，角质层厚度，叶脉密度

中图分类号：Q945　　　　**文献标识码：**A

Effects of different diameters punch needles and calibration methods on leaf force to punch mechanical strength

LI Hongyan, OU Meijing, ZHAO Qiuju, LI Jiawei*

（*State Key Laboratory for Conservation and Utilization of Subtropical Agro-Bioresources*, *College of Forestry*, *Guangxi University*, Nanning 530004, China）

Abstract: The leaf force to punch strength is one of the important indexes to reflect the mechanical resistance of the leaf, but the final result is affected by the needle diameter and

基金项目：国家自然科学基金（31901092，32260259）；广西自然科学基金（2021GXNSFBA075059）[Supported by National Natural Science Foundation of China（31901092，32260259）; Natural Science Foundation of Guangxi（2021GXNSFBA075059）]。

第一作者：李红燕（1999-），硕士研究生，研究方向为植物生理生态研究，（E-mail）lihongyan202103@163.com。

***通信作者：**李佳蔚，博士，讲师，研究方向为植物生理生态研究，（E-mail）lijiawei1662020@163.com。

calibration method. To analyze the influence of different punch needle diameters and calibration methods on force to punch measurement, the difference of leaf force to punch of 30 plants with parallel vein monocots and dicots with reticulate veins under different diameter needles and their calibrations with functional traits from the campus of Guangxi University were measured. The results were as follows: (1) The force to punch was calibrated based on the needle circumference, cross-section area and leaf thickness. The measured force to punch varied with needle diameter and calibration method. (2) The differences among the leaf force to punch of the three diameters punch needle were different under different calibration methods. Among them, there was no significant difference in the force to punch in different thickness punch needles when calibrated by punch needles circumference and needles circumference combining the leaf thickness; When only using leaf thickness for calibration, the thicker the punch needles, the force to punch increased with needle diameters, but it decreased when only using the needle cross-section area or combining the cross-section area with the leaf thickness for calibration. In addition, the leaf force to punch of monocots was significantly higher than that of dicots. (3) As the variation range of force to punch across needle diameter was calculated for each species, the correlation between this variation range and leaf traits differed with calibration methods. Leaf vein type, leaf density, leaf mass per area, cuticle thickness and vein density significantly influenced this range. Overall, needle diameters and calibration methods significantly affected the accuracy of leaf force to punch measurements across plant groups with different venation types. We advise carefully selecting perforation needles and calibration methods for force to punch measurements based on the research questions and studied plant groups. It is suggested that the punch needle with a diameter of 0.5 mm should be applied to the blade with large vein density and small leaf mass per area, but not to the hard leaves; the needle with a diameter of 2 mm should not be applied to the blade with large vein density or small leaf mass per area. It is more reasonable to choose the needle with a diameter of 1 mm and use its circumference for calibration in three diameters.
Key words: leaf force to punch, differences of force to punch, leaf density, leaf mass per area, cuticle thickness, vein density

植物如何响应环境变化一直是生态学研究领域的一个核心问题，关于植物功能性状与环境的研究已被认为是探究生态学研究前沿的一个重要手段(刘晓娟和马克平，2015; 张杰等，2018)。叶片是植物进行光合和蒸腾作用的一个重要器官，其功能性状是指与植物繁殖生存、生长死亡及其适应环境等密切相关的一系列性状(刘晓娟和马克平，2015; 吴一苓等，2022)。叶片暴露在自然环境中，其机械抗性是叶片在结构保护中抵御风雨、干旱、摩擦等非生物损伤和食草动物咀嚼、踩踏等生物损伤的一个关键性状(Niklas, 1992; Onoda et al., 2008; Enrico et al., 2016）。探讨叶片功能性状与机械抗性之间的关系，有助于进一步了解植物对其生境的适应策略，也是全球气候变化背景下植物生态学研究的一个热点。已有许多研究对叶片结构及其机械抗性的关系展开了相关研究，结果表明，叶片密度（Onoda et al., 2011; Méndez-Alonzo et al., 2019）、叶片厚度和比叶重 （Onoda et al., 2011）、角质层厚度（Onoda et al., 2012）、叶脉密度（Roth-Nebelsick et al., 2001; Kawai et al., 2016）和脉络模式（Roth-Nebelsick et al., 2001; Enrico et al., 2016）等性状是影响叶片机械抗性的结构基础，关于它们的研究现仍受研究者持续关注（He et al., 2019; Hua et al., 2020; 韦伊等，2022）。

在前人的研究中，测定叶片机械抗性的常用方法有穿孔、撕裂和剪切试验（Read & Sanson, 2003; Onoda et al., 2011; Enrico et al., 2016），许多研究者都用这些方法测定了不同植物叶片的机械抗性。叶片穿透力是衡量叶片抵抗机械伤害的重要指标之一，在其测定过程中，利用穿刺针的直径校准是对穿透力标准化的重要手段之一。研究一般利用穿刺针周长、横截面积和叶片厚度等来对机械强度进行校准，然而，不同研究之间所使用的穿刺针直径和校准方法有所差异。Onoda 等（2008）用直径为 1.345 mm 平端圆柱形冲头杆测定了一种车前属植物的穿透力，Lusk 等（2010）使用直径为 2 mm 的冲头杆测定了 13 种热带雨林常绿植物的穿透力，Arellano-Rivas 等（2018）用直径 1 mm 的圆柱体穿透叶片测量了 23 种植物的穿透力。研究者（Read & Sanson, 2003; 王海玲等, 2021; Meng et al., 2022）用直径为 0.5 mm 的冲头杆测定了叶片的穿透力，也有不少研究者（He et al., 2019; Hua et al., 2020; Wang et al., 2021; 韦伊等, 2022）用直径为 0.6 mm 的穿刺针进行测定。研究中所使用穿刺针的直径不同，测定后利用穿刺针周长（Lusk et al., 2010; Wang et al., 2021; 王海玲等, 2021; 韦伊等, 2022）、横截面积（Read & Sanson, 2003; Onoda et al., 2008）对穿透力进行了校准。此外，He 和 Sun（2016）用直径 1.2 mm 的圆柱形冲头测定了 107 种植物的叶片穿透力，Salgado-Luarte 等（2022）用直径 1.7 mm 的钝杆测量了穿刺叶片所需要的力，Matsuda 等（2022）用直径 3 mm 的冲压柱测量了叶片的韧性，但这些研究中并没有明确指出用何种校准方式进行校准。穿刺针的周长与横截面积表征了外力刺穿叶片的接触面，也有研究表明，穿孔强度与叶片厚度有关（Read & Sanson, 2003; Onoda et al., 2008），当前关于叶片穿透力的穿刺针直径和校准方法的利用尚未统一，且对比多种直径的穿刺针对叶片穿透力进行测定的研究未见报道。

目前，已有前人对单子叶植物和双子叶植物的叶片机械强度进行了研究，Dominy 等（2008）的研究结果表明单子叶植物的穿透力和剪切力高于双子叶植物，Onoda 等（2011）研究表明，平行脉单子叶植物比双子叶植物更耐撕裂，Enrico 等（2016）研究表明，网状脉络的叶片撕裂力低于平行脉络的撕裂力，剪切力在网状脉络和平行脉络之间也有显著差异。一般来说，单子叶植物的叶脉类型为平行脉，双子叶植物的叶脉类型为网状脉。结合已有研究来看，叶脉类型对叶片机械抗性有所影响，而关于不同粗细穿刺针及校准方式对不同叶脉类型的平行脉单子叶植物和网状脉双子叶植物叶片穿透力测定过程的影响仍缺少研究。

本研究以广西大学校园为研究区域，依托具平行脉序的单子叶植物与具网状脉序的双子叶植物共 30 种植物作为研究对象，采用单因素方差分析、独立样本 T 检验和相关性分析方法，通过用 3 种不同直径的穿刺针测定叶片穿透力后，用穿刺针周长、横截面积及叶片厚度等进行校准，测量叶片重量、叶片面积、叶片比叶重、叶片厚度、角质层厚度和叶片密度、叶脉密度等一系列叶片性状，拟探讨以下问题：（1）不同直径穿刺针测定和不同校准方法校准的叶片穿透力是否有所差异。（2）具有不同脉序类型分布的平行脉单子叶与网状脉双子叶植物的叶片穿透力是否有所差异。（3）分析穿透力差异与叶片性状之间的关系，以期为测定植物叶片穿透力过程穿刺针直径及校准方法的选择提供参考。

1 材料和方法

1.1 研究地概况

研究地选取于广西南宁市西乡塘区的广西大学校园内，位于 107°45′—108°51′E、22°13′—23°32′N。南宁市地处亚热带，属于亚热带季风湿润气候，阳光充足，降雨较多，年均气温在 21.6 ℃左右，夏季最热是 7、8 月份（28.2 ℃），冬季最冷是 1 月（12.8 ℃）。年均降雨量 1 304.2 mm，集中在 5—9 月，年均相对湿度为 79%。

1.2 测定方法

本研究于 2021 年 7 至 8 月共选取 15 种具平行脉的单子叶植物和 15 种具网状脉的双子叶植物为研究对象（表 1），每个种分别从 6 个不同的个体上选取 4~5 片健康成熟的叶片进行测定。

表 1 15 种单子叶植物和 15 种双子叶植物

Table 1 15 monocots and 15 dicots

种名 Species	缩写 Abbreviation	科名 Family	叶脉类型 Leaf venation
单子叶植物 Monocots			
韭莲 *Zephyranthes carinata*	Zc	石蒜科 Amaryllidaceae	平行脉 Parallel venation
沿阶草 *Ophiopogon bodinieri*	Ob	天门冬科 Asparagaceae	平行脉 Parallel venation
饭包草 *Commelina benghalensis*	Cb	鸭跖草科 Commelinaceae	平行脉 Parallel venation
美人蕉 *Canna indica*	Cai	美人蕉科 Cannaceae	平行脉 Parallel venation
再力花 *Thalia dealbata*	Td	竹芋科 Marantaceae	平行脉 Parallel venation
风车草 *Cyperus involucratus*	Ci	莎草科 Cyperaceae	平行脉 Parallel venation
梭鱼草 *Pontederia cordata*	Pc	雨久花科 Pontederiaceae	平行脉 Parallel venation
地毯草 *Axonopus compressus*	Ac	禾本科 Poaceae	平行脉 Parallel venation
孝顺竹 *Bambusa multiplex*	Bm	禾本科 Poaceae	平行脉 Parallel venation
棕竹 *Rhapis excelsa*	Re	棕榈科 Arecaceae	平行脉 Parallel venation
鱼尾葵 *Caryota maxima*	Cam	棕榈科 Arecaceae	平行脉 Parallel venation
散尾葵 *Dypsis lutescens*	Dl	棕榈科 Arecaceae	平行脉 Parallel venation
江边刺葵 *Phoenix roebelenii*	Pr	棕榈科 Arecaceae	平行脉 Parallel venation
花叶艳山姜 *Alpinia zerumbet 'Variegata'*	Az	姜科 Zingiberaceae	平行脉 Parallel venation
花叶长果山菅 *Dianella tasmanica 'Variegata'*	Dt	阿福花科 Asphodelaceae	平行脉 Parallel venation
双子叶植物 Dicots			
桃 *Prunus persica*	Pp	蔷薇科 Rosaceae	网状脉 Reticular venation
灰莉 *Fagraea ceilanica*	Fc	龙胆科 Gentianaceae	网状脉 Reticular venation
朱槿 *Hibiscus rosa-sinensis*	Hr	锦葵科 Malvaceae	网状脉 Reticular venation
山茶 *Camellia japonica*	Cj	山茶科 Theaceae	网状脉 Reticular venation
杜鹃 *Rhododendron simsii*	Rs	杜鹃花科 Ericaceae	网状脉 Reticular venation
白兰 *Michelia* × *alba*	Ma	木兰科 Magnoliaceae	网状脉 Reticular venation
木樨 *Osmanthus fragrans*	Of	木樨科 Oleaceae	网状脉 Reticular venation
叶子花 *Bougainvillea spectabilis*	Bs	紫茉莉科 Nyctaginaceae	网状脉 Reticular venation
基及树 *Carmona microphylla*	Cm	紫草科 Boraginaceae	网状脉 Reticular venation
印度榕 *Ficus elastica*	Fe	桑科 Moraceae	网状脉 Reticular venation
大花紫薇 *Lagerstroemia speciosa*	Ls	千屈菜科 Lythraceae	网状脉 Reticular venation
小叶榄仁 *Terminalia neotaliala*	Tn	使君子科 Combretaceae	网状脉 Reticular venation
直立山牵牛 *Thunbergia erecta*	Te	爵床科 Acanthaceae	网状脉 Reticular venation
中国无忧花 *Saraca dives*	Sd	豆科 Fabaceae	网状脉 Reticular venation
红花羊蹄甲 *Bauhinia* × *blakeana*	Bb	豆科 Fabaceae	网状脉 Reticular venation

1.2.1 叶片穿透力机械抗性测定

本研究叶片穿透力使用小型拉力测验机（ZQ 990，中国）测定。用螺旋测厚仪避开叶片主脉测定叶片厚度，将直径分别为 0.5 mm、1 mm 和 2 mm 的平端圆柱形穿刺针避开叶片中脉穿透叶片，所读取的最大力数值即为叶片穿透力（*Fp*）（Onoda et al., 2011）。根据前人研究中对机械强度的校准以及提到的影响机械强度的因素，本研究分别用 5 种不同校准方式对所测得的穿透力进行校准，得 5 种叶片穿透力，即

$Fp_1=\frac{Fp}{C}$（Lusk et al., 2010; Onoda et al., 2011）

$Fp_2=\frac{Fp}{C\times LT}$（Lusk et al., 2010）

$Fp_3=\frac{Fp}{LT}$（Choong et al., 1992; Dominy et al., 2008）

$Fp_4=\frac{Fp}{A}$（Read & Sanson, 2003; Onoda et al., 2008）

$Fp_5=\frac{Fp}{A\times LT}$（Read & Sanson, 2003）

式中：*C* 表示穿刺针周长；*LT* 表示叶片厚度；*A* 表示穿刺针横截面积。

1.2.2 叶片密度和比叶重测定

去掉叶柄后，用电子天平测量叶片鲜重，然后用叶面积仪（LI-3000C, LI-COR, USA）进行叶片面积的测定，再将叶片放于信封中做好标记后置于烘箱 70 ℃烘 48 h，取出后迅速测定其干重。叶片干重除以叶片面积即为叶片比叶重，比叶重与叶片厚度的比值即为叶片密度（韦伊等，2022）。

1.2.3 叶片解剖测定

用双面刀片对叶片（避开主脉）进行徒手切片，制成临时装片，通过光学显微镜（LEICA DM3000 LED, Germany）40 倍物镜观察叶片上、下角质层厚度，拍照保存后用 Image J 1.52n 软件（Rueden et al., 2016; www.imagej.nih.gov, USA）测量并计算。

叶脉密度的测定：避开叶片主脉，选取中间约 1 cm^2 的小块叶片放入冰乙酸和质量分数为 30%的过氧化氢以 1:1 比例混合的溶液中，放于 70 ℃恒温水浴锅中煮至叶片接近透明后，用自来水清洗后置于载玻片上，用番红溶液染色后再用 50%的乙醇溶液轻轻冲洗，然后放在光学显微镜下观察并拍照，用 Image J 软件测量叶脉长度。叶脉长度与其对应面积的比值即为叶脉密度（徐龙等，2020）。

1.2.4 数据分析

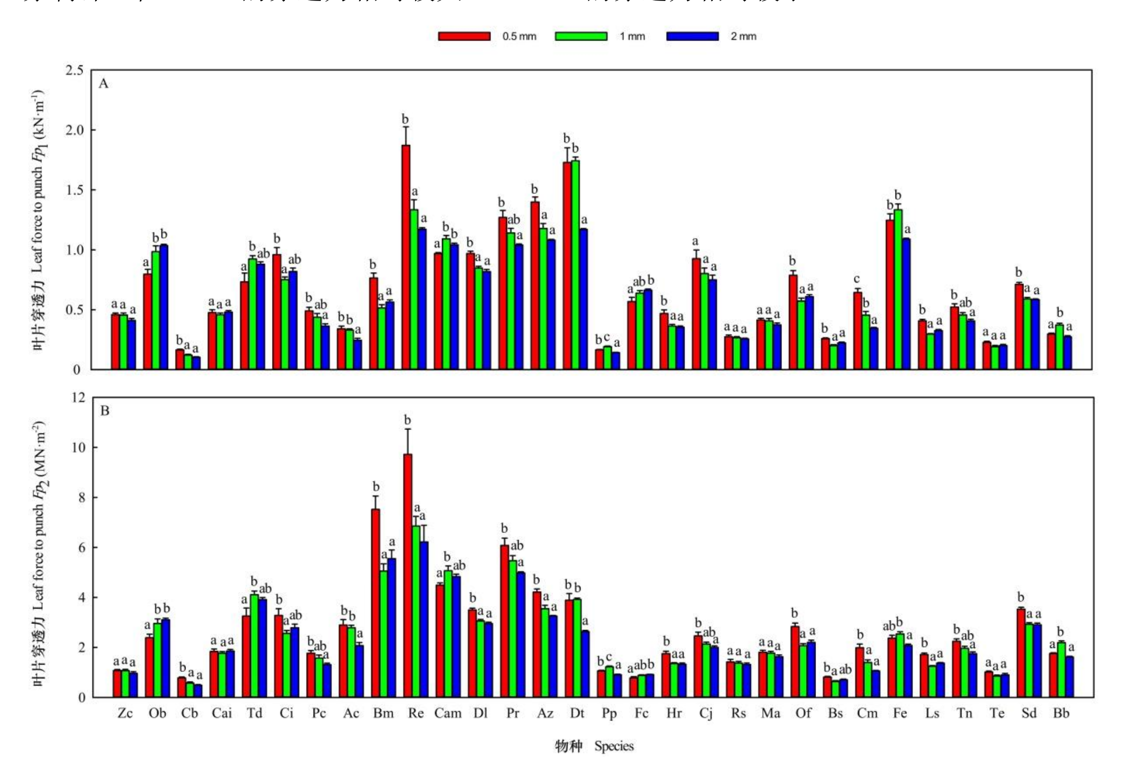
用 Microsoft Excel 2010 对数据进行初步整理，柱形图结果以平均值表示，通过 IBM SPSS Statistics 23（IBM, USA）对 3 种直径穿刺针叶片穿透力之间进行单因素方差分析，用 Tukey HSD 法对 3 种直径穿刺针叶片穿透力之间的差异进行多重比较；对单子叶植物和双子叶植物之间的叶片穿透力进行独立样本 T 检验，对比单子叶植物和双子叶植物叶片穿透力之间的差异；用 Pearson 法分析 3 种直径穿刺针叶片穿透力的差异与叶片性状之间的相关性，采用 SigmaPlot 14.0（Systat Software, USA）软件作图。ΔFp，代表 3 种直径穿刺针叶片穿透

力之间最大值与最小值的差异。*Fp* SD，*Fp* 的标准偏差 STDEV 值，代表 3 种直径穿刺针叶片穿透力之间的差异。

2 结果与分析

2.1 不同直径穿刺针及其不同校准方式对植物叶片穿透力的影响

由图（图 1、附图 1）可见，5 种校准方式中，Fp_1、Fp_2（图 1）中，约有三分之二（67%）的物种穿刺针直径为 0.5 mm 和 2 mm 的叶片穿透力有显著差异（P<0.05），三分之一（33%）的物种 3 种直径穿刺力之间无显著差异。Fp_3、Fp_4 和 Fp_5（附图 1）中，总体来说，各物种中的 3 种直径穿透力之间几乎都有显著差异。从总体来看，Fp_1、Fp_2（图 1：A、B，图 2：A、B）和 Fp_4、Fp_5（附图 1：B、C，图 2：D、E）中，穿刺针直径 0.5 mm 的穿透力相对较大，2 mm 的穿透力相对较小。而只用叶片厚度校准的 Fp_3（附图 1：A，图 2：C）中，穿刺针直径 2 mm 的穿透力相对较大，0.5 mm 的穿透力相对较小。



不同字母代表不同直径穿刺针的穿透力之间差异显著（P<0.05）。下同。

Different letters represent significant differences in the force to punch of different needle diameters (P<0.05). The same below.

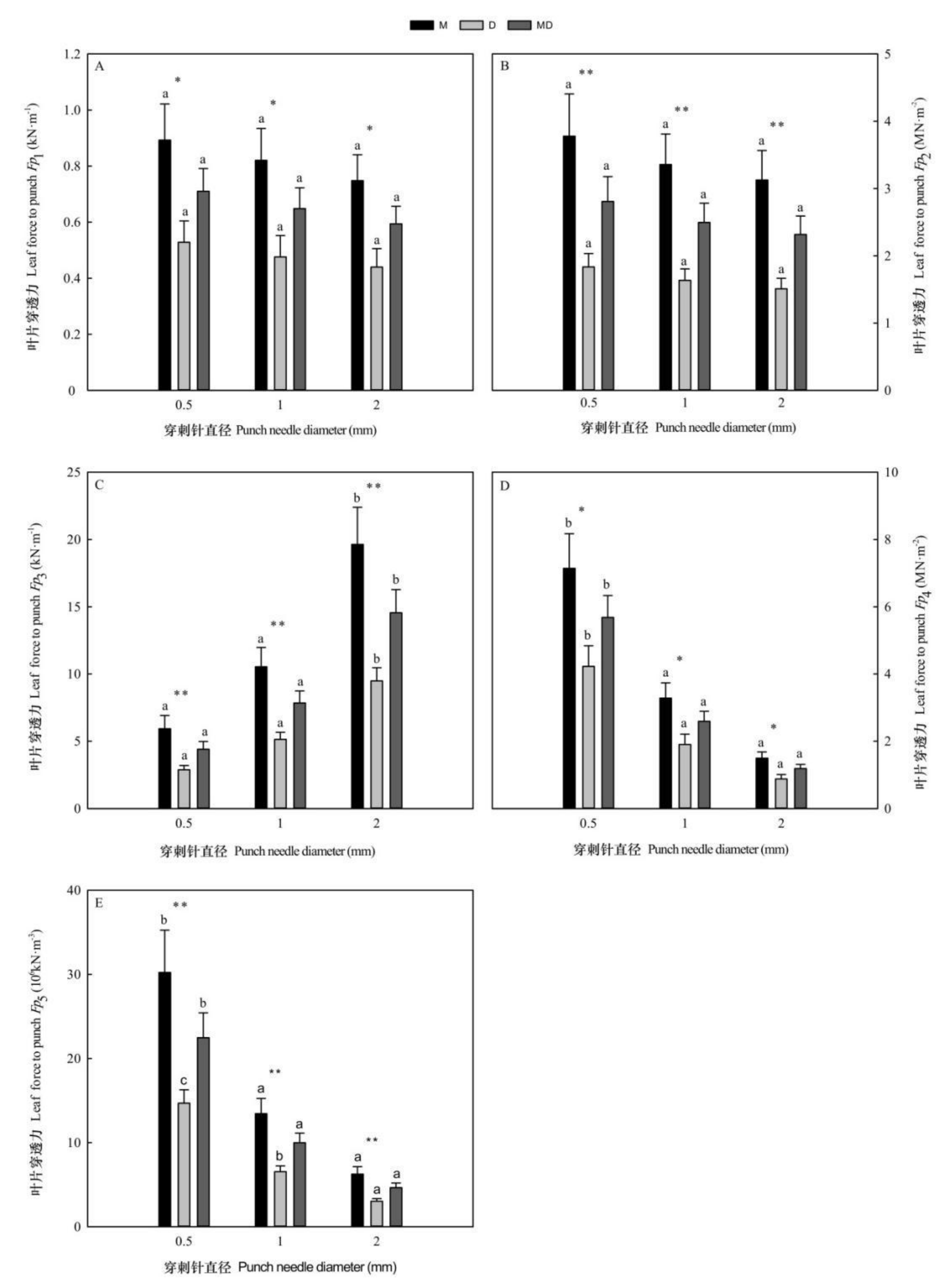
图 1　30 种植物不同校准方式下 3 种直径穿刺针的叶片穿透力差异

Fig.1　Differences between leaf force to punch based on three needle diameters and different calibration methods in 30 species

2.2 不同直径穿刺针及校准方法下单子叶植物和双子叶植物叶片穿透力的差异

通过对具平行脉单子叶植物和具网状脉双子叶植物 3 种不同直径穿刺针叶片穿透力进行单因素方差分析和独立样本 T 检验，结果表明，Fp_1 和 Fp_2 中（图 2：A、B），单子叶植

物和双子叶植物各自 3 种直径穿刺针的穿透力之间均无显著差异（*P*>0.05）。Fp_3 中（图 2：C），单子叶植物和双子叶植物穿刺针直径为 2 mm 的穿透力均显著大于 0.5 mm 和 1 mm 的穿透力（*P*<0.05）。Fp_4 和 Fp_5 中（图 2：D、E），穿刺针直径为 0.5 mm 的叶片穿透力均显著大于 1 mm 和 2 mm 的穿透力（*P*<0.05），单子叶植物中直径为 1 mm 和 2 mm 的穿透力无显著差异（*P*>0.05），而 Fp_5 中双子叶植物 3 种直径之间穿透力的差异均达到显著水平（*P*<0.05），针直径为 0.5 mm 的穿透力最大，直径为 2 mm 的穿透力最小（图 2：E）。单子叶植物 3 根不同粗细穿刺针的穿透力均大于相同粗细穿刺针下双子叶植物的穿透力，其中，单子叶植物和双子叶植物穿透力之间的差异在 Fp_1 和 Fp_4 中达到显著水平（*P*<0.05），在 Fp_2、Fp_3 和 Fp_5 中达到极显著水平（*P*<0.01）（图 2）。



误差线为标准误。M，D，MD 分别表示单子叶植物、双子叶植物、单子叶和双子叶 30 种植物。*表示单双子叶植物相同直径穿刺针的穿透力之间有显著差异（*P*<0.05）；**表示极显著差异（*P*<0.01）。下同。

Error bars are standard errors. M, D, and MD represent monocots, dicots and thirty species of both groups,

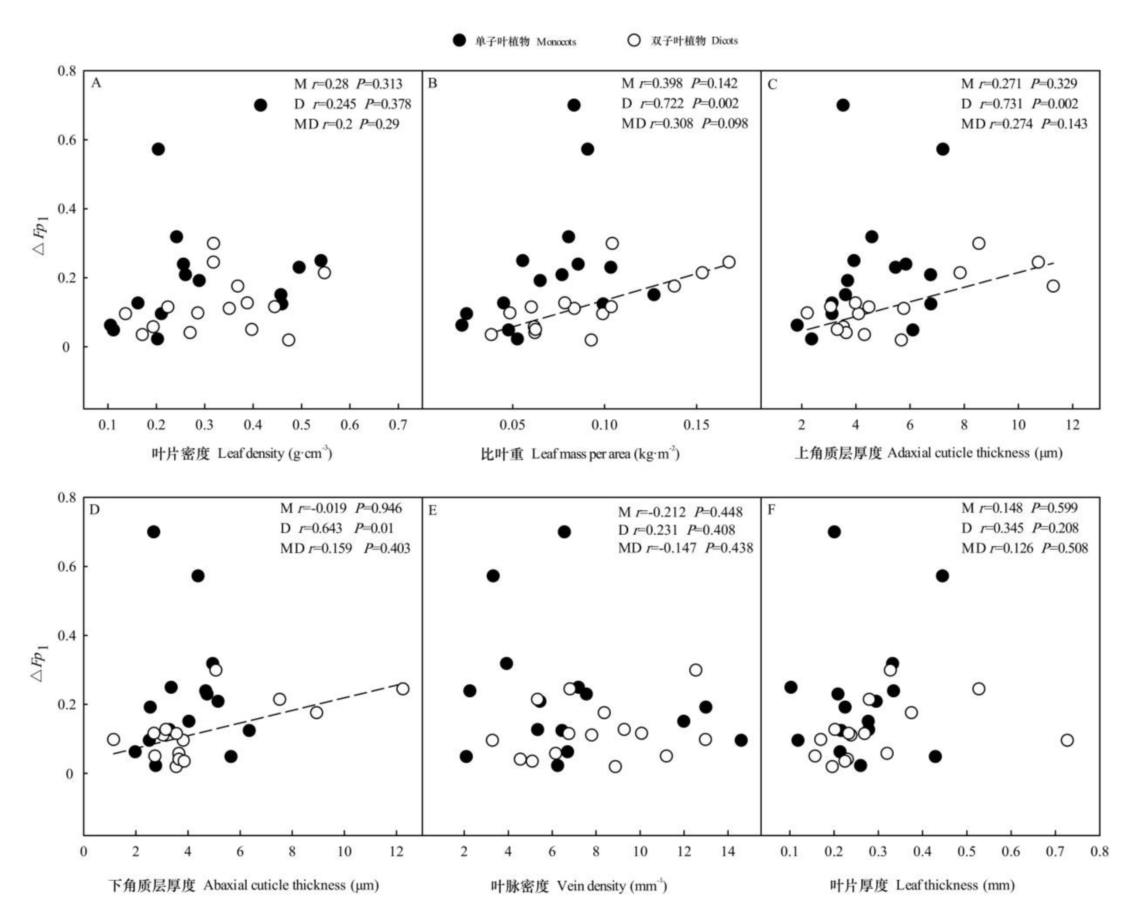
respectively. *represents significant differences in the force to punch of punch needle of the same diameter in monocots and dicots (P<0.05); **represents highly significant differences (P<0.01). The same below.

图 2 3 种不同直径穿刺针及其不同校准方式对单子叶植物和双子叶植物叶片穿透力影响的差异

Fig.2 Differences between leaf force to punch measurements based on three different needle diameters and using different calibration methods in monocots and dicots

2.3 不同校准方式下 3 种直径穿刺针叶片穿透力的差异与叶片性状的关系

Pearson 相关分析结果表明，Fp_1 中，平行脉单子叶植物 3 种直径穿刺针穿透力的差异与所测定叶片性状的关系均不显著（P>0.05）。网状脉双子叶植物中，3 种直径穿透力的差异与比叶重、上角质层厚度和下角质层厚度之间呈正相关关系（图 3，附图 2：B、C、D），说明 Fp_1 校准方式下，比叶重和角质层厚度可能是造成双子叶植物该差异的因素，而单子叶植物中叶片性状均没有对这种差异造成影响。Fp_2 中，平行脉单子叶植物的这种差异与叶片密度的关系呈显著正相关（图 4，附图 3：A），而在网状脉双子叶植物中，叶脉密度与 3 种直径穿透力中最大值减最小值△Fp_2 之间呈正相关关系（图 4：E），而与 3 种直径穿透力之间的差异 Fp_2 SD 的相关关系相对较弱（P>0.05）（附图 3：E）。这说明 Fp_2 校准方式下，叶片密度可能是引起单子叶植物此差异的结构因素，而造成双子叶植物该差异的结构因素是叶脉密度。



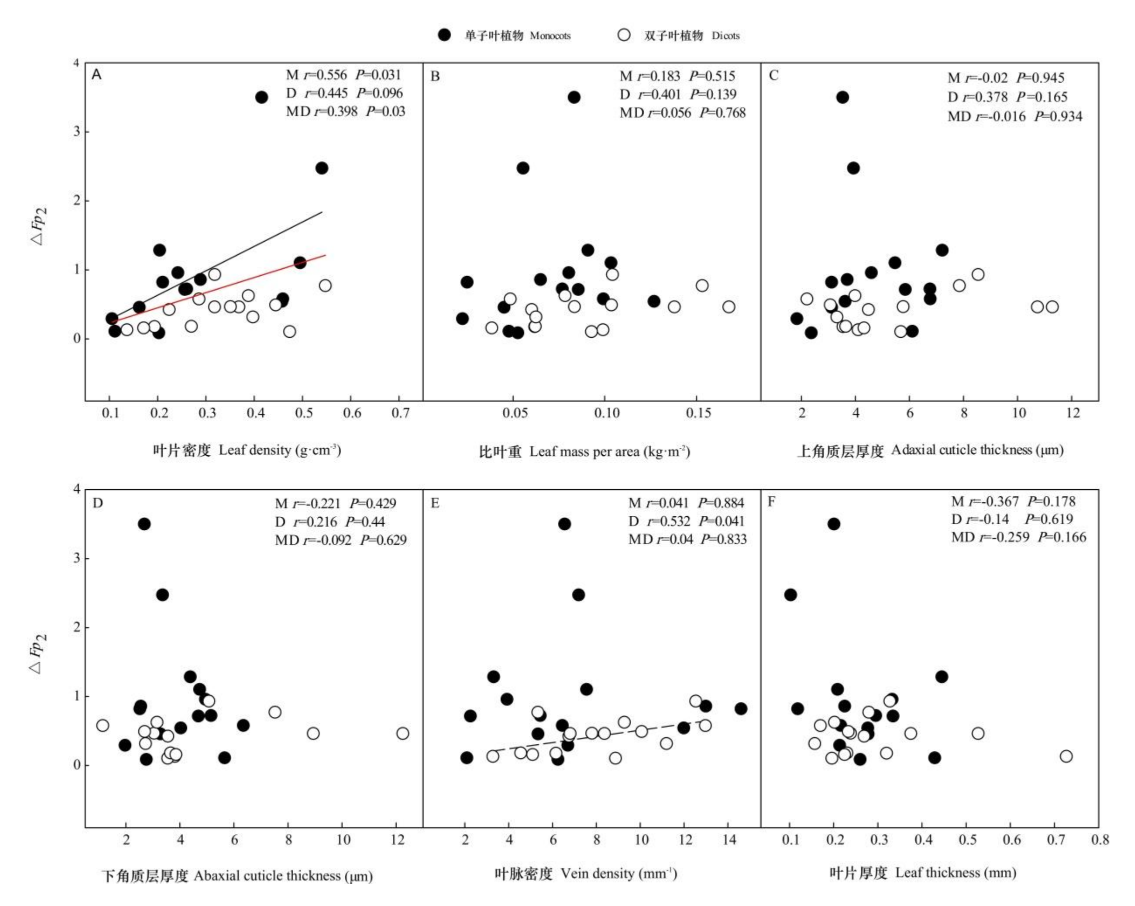
△Fp_1 表示 Fp_1 3 种直径穿刺针叶片穿透力之间最大值与最小值的差异。黑圆表示单子叶植物，白圆表示双子叶植物。P<0.05 表示显著相关；P<0.01 表示极显著相关。黑色虚线为双子叶植物的相关趋势线。下同。

△Fp_1 represents differences between the maximum value and the minimum value of the leaf force to punch of three diameters of punch needle of Fp_1. Black circles represent monocots, white circles represent dicots. P<0.05 represents

significant correlation; P<0.01 represents highly significant correlation. The black dashed line is the associated trend line for the dicot. The same below.

图 3　*Fp*$_1$ 3 种直径穿刺针叶片穿透力的差异与叶片性状的相关性分析

Fig.3　Correlation between the differences in leaf force to punch of three diameters punch needle and leaf traits of Fp_1



ΔFp_2 表示 Fp_2 3 种直径穿刺针叶片穿透力之间最大值与最小值的差异。黑色实线为单子叶植物的相关趋势线，红色实线为单子叶和双子叶 30 种植物的相关趋势线。

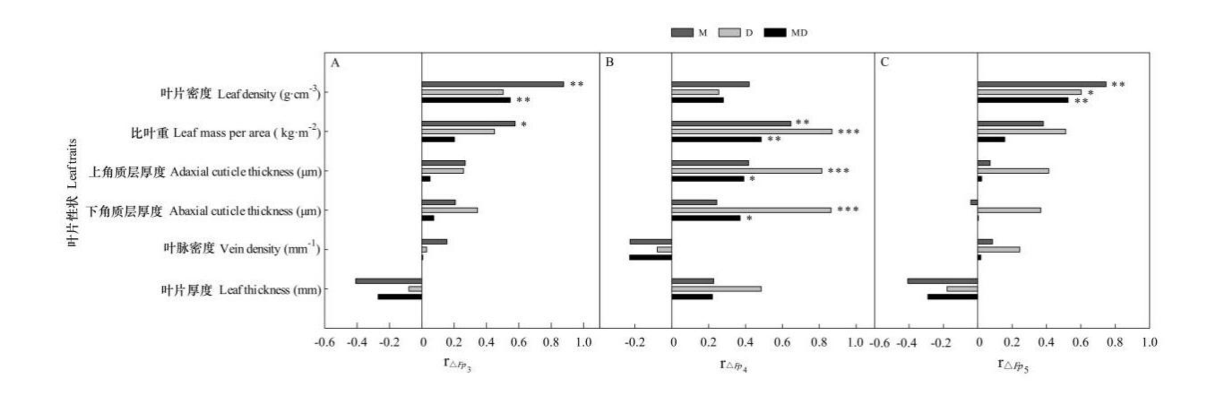
ΔFp_2 represents the difference between the maximum value and the minimum value of the leaf force to punch of three diameters of punch needle of Fp_2. The black solid line is the associated trend line for the monocots, and the red solid line is the associated trend line for the monocots and dicots 30 species.

图 4　Fp_2 3 种直径穿刺针叶片穿透力的差异与叶片性状的相关性分析

Fig.4　Correlation between the differences in leaf force to punch of three diameters punch needle and leaf traits of Fp_2

Fp_3 中（图 5，附图 4：A），单子叶植物 3 种直径穿透力的差异与叶片密度、比叶重均呈正相关关系，说明 Fp_3 校准方式下，叶片密度和比叶重可能是致使单子叶植物该差异产生的原因。而双子叶植物的 6 个叶片性状均与该差异无显著相关关系，表明双子叶植物中叶片性状不影响这种差异。Fp_4 中（图 5，附图 4：B），单子叶植物 3 种直径穿透力的差异与比叶重呈正相关关系，而在双子叶植物中，该差异与比叶重、上角质层厚度和下角质层厚度均有极其显著的正相关关系。在 30 种植物中，该差异与比叶重和上、下角质层厚度也有显著关系，表明在 Fp_4 校准方式下，比叶重和角质层厚度极有可能是造成这种差异的结构因素。Fp_5 中，在所测的 6 个叶片性状中，叶片密度与 3 种直径穿透力的差异之间的关系呈正相关（图 5、附图 4：C），说明叶片密度极有可能是 Fp_5 校准方式下导致该差异产生的结构影响

因素。



$r_{\triangle Fp}$ 表示 3 种直径穿刺针叶片穿透力之间最大值与最小值的差异与叶片性状的皮尔逊相关值。***表示极其显著相关（P<0.001）。

$r_{\triangle Fp}$ represents the Pearson correlation coefficients between leaf force to punch range punch needle and leaf traits. *** represents extremely significant correlation (P<0.001).

图 5 Fp_3、Fp_4、Fp_5 3 种直径穿刺针叶片穿透力的差异与叶片性状的相关性分析

Fig.5 Correlations between three needle diameter force to punch range and leaf traits of Fp_3, Fp_4, and Fp_5

3 讨论

3.1 不同穿刺针直径及校准方法对植物叶片穿透力的影响

由本研究结果可知，不同校准方法和不同直径穿刺针测定叶片穿透力存在差异。总体来说，在 Fp_1、Fp_2、Fp_4 及 Fp_5 校准方式下，穿刺针越细的穿透力相对较大，针越粗的穿透力相对较小。而 Fp_3 中，穿刺针直径越粗，穿透力相对较大，针越细，穿透力相对较小。平行脉单子叶植物中，棕榈科植物的叶片穿透力相对较大，这与研究认为棕榈叶片抗性较强的结果相似（Dominy et al., 2008; Onoda et al., 2011）。而在网状脉双子叶植物中，整体来说，种间的穿透力差异较小，但山茶、木樨和印度榕的穿透力相对较大，其余的种相对较小。值得注意的是，用直径 2 mm 的穿刺针测定沿阶草、江边刺葵、花叶艳山姜、花叶长果山菅和印度榕时，穿透力数值读数均为 6 N 以上，出现了显示力保护触发、穿刺针不自动回位等现象，这可能是由于叶片较为革质，叶肉组织较为致密，穿刺针所受摩擦力较大导致。而且，可能由于花叶长果山菅叶子较为坚硬，用直径 2 mm 的穿刺针测定花叶长果山菅的穿透力时并没有刺破叶片，而是轻轻打了一个印，用直径 0.5 mm 的穿刺针测定时针容易弯曲变形，这与彭晓枫等（2021）认为较细的活检针容易变形的结果相似。因此，叶片的革质程度也是测定穿透力选择穿刺针直径时要考虑的一个因素。

3.2 不同测定及校准方法下单子叶植物和双子叶植物叶片穿透力的差异

本研究结果表明，不同粗细穿刺针会对单双子叶植物的叶片穿透力有所影响，不同校准方式下穿透力之间的差异也有所不同。Fp_1 和 Fp_2 是研究常用的叶片机械强度校准方式，Fp_1

和 Fp_2 中，3 种直径穿刺针的穿透力在单子叶植物和双子叶植物中均没有显著差异，说明在 Fp_1 和 Fp_2 的校准方式下，穿刺针的粗细对叶片穿透力没有影响。在 Fp_3、Fp_4、Fp_5 中，直径 0.5 mm 和 2 mm 穿刺针的穿透力在单子叶植物和双子叶植物中均有显著差异，表明 Fp_3、Fp_4、Fp_5 校准方式下，穿刺针的粗细对平行脉单子叶植物和网状脉双子叶植物的叶片穿透力都有影响。而在用叶片厚度校准的 Fp_3 中，穿刺针直径（2 mm）较大的穿透力显著大于直径较小（1 mm、0.5 mm）的穿透力，可能是由于穿刺针直径越大，与叶片接触的面积越大，所受到的摩擦力也越大，所以阻力越大。

Dominy 等（2008）研究了澳大利亚高降雨地区的 6 种单子叶植物和 10 种双子叶植物，结果表明，单子叶植物的穿透力比双子叶植物高。Onoda 等（2011）的研究结果表明，单子叶植物的穿透力比木本双子叶植物大。本研究表明，单子叶植物 3 种不同直径穿刺针的叶片穿透力均显著大于相同直径穿刺针下双子叶植物的穿透力，表明单子叶植物的叶片穿透力高于双子叶植物。这与前人的研究结果相一致，进一步验证了单子叶植物比双子叶植物有更高的机械抗性。

3.3 不同测定及校准方法产生叶片穿透力的差异与叶片性状的关系

本研究结果显示，在单子叶植物和双子叶植物中，不同的校准方式下 3 种直径穿刺针穿透力差异与叶片性状的相关性有所不同，说明造成不同校准方式下单双子叶植物中 3 种直径穿透力差异的结构影响因素不同。总的来说，该差异与叶片密度、比叶重、角质层厚度和叶脉密度相关，叶片密度、比叶重、角质层厚度和叶脉密度是该差异产生的结构因素。许多研究者研究了叶片性状与叶片机械力学的关系，通过本研究进一步探明测定及校准方法产生叶片穿透力差异与叶片性状的关系，将利于完善对叶片生态适应的理解。

前人研究表明，叶片密度与叶片机械特性密切相关（Méndez-Alonzo et al., 2013）。本研究结果显示，叶片密度造成是 Fp_2、Fp_3 校准方式下单子叶植物和 Fp_5 校准方式下单双子叶植物 3 种直径穿透力之间差异的结构因素。Kitajima 等研究了玻利维亚森林的 19 种热带树种（Kitajima & Poorter, 2010）和巴拿马潮湿热带森林的 24 种耐阴树种（Kitajima et al., 2012），认为叶片密度是提高叶片韧性的一个因素，有利于延长叶片寿命。Méndez-Alonzo 等（2019）通过测定美国加利福尼亚的 17 个灌木物种，发现叶片密度是叶片水力学和生物力学之间协变的驱动因素，表明了叶片密度对力学特性的影响。这些研究均表明了叶片密度对叶片力学的重要性，与本研究发现叶片密度是 3 种直径穿透力差异之间的驱动因素的结果具有一定的相似性，进一步验证了叶片密度对叶片抗性的影响。

叶脉是贯穿于叶肉中维管组织及其周围的机械组织，具有运输、机械支持及防御等重要功能（吴一苓等, 2022）。Kawai 等（2016）研究了日本温带森林八种壳斗科植物的叶脉性状和叶片力学特性之间的关系，结果显示一、二级叶脉密度与叶片机械抗性呈正相关，表明叶脉密度会影响机械强度。而本研究发现叶脉密度仅在 Fp_2 校准方式下双子叶植物中与 3 种直径穿透力之间的差异有相关性，说明叶脉密度也有可能是影响该差异的结构因素。此外，叶脉脉序类型也对机械力学有影响。Enrico 等（2016）测量了澳大利亚 72 种叶片的撕裂力和剪切力，结果表明，平行脉络叶片的撕裂力高于网状脉络的叶片撕裂力，剪切力在这两种叶脉类型之间也有差异，这表明了平行脉植物与网状脉植物的机械强度有所差异。而本研究 5 种校准方式下平行脉单子叶植物的叶片穿透力均比网状脉双子叶植物高，这与前人的研究结果相似，表明了叶片机械阻力与脉序类型有关。由此表明叶脉密度和脉序类型都对机械抗性有影响，可见叶脉性状对机械力学的重要性。

比叶重是反映植物叶片功能的重要指标之一，也是被广泛认为是与叶片机械抗性有显著相关关系的一个重要性状（Kitajima & Poorter, 2010）。此外，角质层作为植物的防水屏障，可以保护植物免受干燥、紫外线等外源伤害（Bourdenx et al., 2011），也是影响叶片机械强

度的一个重要因素。Onoda 等（2011）对全球 90 个地点共 2819 个物种的叶片力学和相关性状的分析结果表明，叶片厚度越厚，比叶重越高，叶片的机械抗性越强。Onoda 等（2012）还对澳大利亚的 13 种常绿木本植物的角质层进行了研究，结果发现角质层越厚，机械强度越高，从而有助于保护叶片表面的完整性。与 Onoda 等人的研究相似，韦伊等（2022）研究了南亚热带森林不同演替时期的 14 个优势种，结果表明，比叶重与叶片穿透力有显著的正相关关系，随着角质层厚度的增加，叶片撕裂力增大。这些研究表明，比叶重和角质层均与叶片机械抗性有相关性，对叶片力学具有重要贡献。本研究发现，比叶重是 Fp_3、Fp_4 校准方式下单子叶植物 3 种不同粗细穿刺针穿透力差异的驱动因素，此外，比叶重和角质层厚度同时也是 Fp_1、Fp_4 校准方式下造成双子叶植物该差异的因素，由此进一步表明了比叶重和角质层在机械强度中的重要性。与 Onoda 的研究结果有较大不同的是，本研究中发现叶片厚度可能不是造成 3 种不同粗细穿刺针穿透力差异的驱动因素，我们推测这可能与植物的生长环境有关，也有可能是所研究物种及数据量不同。

前人的研究结果表明，叶片密度越高、叶片越厚、比叶重越高、角质层越厚、叶脉密度越大，叶片机械抗性越强。这与本研究的结果类似，但较大不同的是本研究中叶脉密度与 3 种直径穿刺针穿透力差异的相关性并不强（r=0.532，P<0.05），也并没有发现叶片厚度与 3 种直径穿刺针穿透力的差异有显著关系。综合以往的研究，我们推测叶脉类型、叶片密度、比叶重、角质层厚度和叶脉密度是 3 种直径穿刺针穿透力之间差异产生的结构影响因素。在叶片穿透力测定过程中，这些结构因素会致使用不同直径的穿刺针所测得的穿透力有所差异，且叶片密度、比叶重、角质层厚度和叶脉密度越大，该差异越大。叶脉影响着比叶重，两者又是叶片经济谱的重要性状，叶片经济谱模型预测，叶脉密度越高，比叶重较小（吴一苓等, 2022）。当前，国际上越来越多学者对利用大型数据库检验生态假设和了解植被模型感兴趣（Kattge et al., 2011; Enrico et al., 2016），叶片力学作为一种重要功能性状，与叶片结构构建成本有关（韦伊等, 2022），其相关研究对于进一步了解和丰富全球叶片经济学谱及其构建具有重要意义，但不同研究所使用的穿刺针直径和校准方法仍然没有统一，这其中产生的差异可能会对研究者整合数据时的工作带来一定的影响。统一穿刺针直径和校准方法，可为辅助数据整合提供方便，确保不同研究数据集之间的兼容性。

4 结论

本研究从 3 种不同直径穿刺针及 5 种校准方法对叶片穿透力的影响出发，揭示了不同直径穿刺针及其不同校准方式对不同叶脉类型植物的叶片穿透力的影响，即不同粗细穿刺针所测得的穿透力有所差异，不同校准方式下该差异有所不同，该差异与叶片性状在不同校准方式下均有一定的相关性，表明叶片性状是造成不同直径穿刺针穿透力之间差异的结构影响因素，平行脉单子叶植物的叶片穿透力均大于网状脉双子叶植物的穿透力。对于不同类型的植物，可选择不同直径的穿刺针测定叶片穿透力，建议直径为 0.5 mm 的穿刺针应用于叶脉密度较大、比叶重较小的叶片测定，但不适用于较为坚硬的叶片，直径为 2 mm 的穿刺针不适用叶脉密度较大、比叶重较小的叶片。结合前人研究来看，利用周长校准的研究较多，且本研究使用周长校准后得到 3 种直径穿刺针的穿透力之间无显著差异，建议测定叶片穿透力时这 3 种针中选择直径为 1 mm 的穿刺针并利用其周长进行校准，以便数据可以标准化。本研究结果有助于对穿刺针直径及校准方法与穿透力之间的关系建立新的认识，但由于本研究所选取的物种有限，为深入探讨穿刺针直径对叶片穿透力测定的影响，可进一步拓展到更多科属和生境类型植物的叶片及其功能性状的研究来评估该结果的普遍性，这将有助于了解穿刺针直径和校准方法对不同科属和生境植物叶片穿透力的影响，为研究者测定穿透力选择穿刺

针及校准方法提供更为科学合理的参考。

参考文献：

ARELLANO-RIVAS A, DE-NOVA JA, MUNGUIA-ROSAS MA, 2018. Patch isolation and shape predict plant functional diversity in a naturally fragmented forest[J]. J Plant Ecol, 11 (1): 136-146.

BOURDENX B, BERNARD A, DOMERGUE F, et al., 2011. Overexpression of *Arabidopsis eceriferum$_1$* promotes wax very-long-chain alkane biosynthesis and influences plant response to biotic and abiotic stresses[J]. Plant Physiol, 156 (1): 29-45.

CHOONG MF, LUCAS PW, ONG JSY, et al., 1992. Leaf fracture toughness and sclerophylly: their correlations and ecological implications[J]. New Phytol, 121 (4): 597-610.

DOMINY NJ, GRUBB PJ, JACKSON RV, et al., 2008. In tropical lowland rain forests monocots have tougher leaves than dicots, and include a new kind of tough leaf[J]. Ann Bot, 101 (9): 1363-1377.

ENRICO L, DÍAZ S, WESTOBY M, et al., 2016. Leaf mechanical resistance in plant trait databases: comparing the results of two common measurement methods[J]. Ann Bot, 117 (1): 209-214.

HE PC, WRIGHT IJ, ZHU SD, et al., 2019. Leaf mechanical strength and photosynthetic capacity vary independently across 57 subtropical forest species with contrasting light requirements[J]. New Phytol, 223 (2): 607-618.

HE WM, SUN ZK. 2016. Convergent production and tolerance among 107 woody species and divergent production between shrubs and trees[J]. Sci Rep, 6: 20485.

HUA L, HE PC, GOLDSTEIN G, et al., 2020. Linking vein properties to leaf biomechanics across 58 woody species from a subtropical forest[J]. Plant Biol (Stuttg), 22 (2):212-220.

KATTGE J, OGLE K, BÖNISCH G, et al., 2011. A generic structure for plant trait databases[J]. Meth Ecol Evol, 2 (2): 202-213.

KAWAI, KIYOSADA, OKADA, et al., 2016. How are leaf mechanical properties and water-use traits coordinated by vein traits? A case study in *Fagaceae*[J]. Funct Ecol, 30(4): 527-536

KITAJIMA K, POORTER L. 2010. Tissue-level leaf toughness, but not lamina thickness, predicts sapling leaf lifespan and shade tolerance of tropical tree species[J]. New Phytol, 186 (3): 708-721.

KITAJIMA K, LLORENS AM, STEFANESCU C, et al., 2012. How cellulose-based leaf toughness and lamina density contribute to long leaf lifespans of shade-tolerant species[J]. New Phytol, 195 (3): 640-652.

LUSK CH, ONODA Y, KOOYMAN R, et al., 2010. Reconciling species-level vs plastic responses of evergreen leaf structure to light gradients: shade leaves punch above their weight[J]. New Phytol, 186 (2): 429-438.

LIU XJ, MA KP, 2015. Plant functional traits—concepts, applications and future directions[J]. Sci Sin(Vitae), 45(4): 325-339. [刘晓娟，马克平，2015. 植物功能性状研究进展[J]. 中国科学：生命科学，45(4)：325-339.]

MATSUDA I, HASHIMOTO C, IHOBE H, et al., 2022. Dietary choices of a foregut-fermenting primate, *Colobus guereza*: a comprehensive approach including leaf chemical and mechanical properties, digestibility and abundance[J]. Front Ecol Evol, 10: 795015.

MÉNDEZ-ALONZO R, EWERS FW, JACOBSEN AL, et al., 2019. Covariation between leaf hydraulics and biomechanics is driven by leaf density in *Mediterranean* shrubs[J]. Trees-Struct Funct, 33 (2): 507-519.

MÉNDEZ-ALONZO R, EWERS FW, SACK L., 2013. Ecological variation in leaf biomechanics and its scaling with tissue structure across three mediterranean-climate plant communities[J]. Funct Ecol, 27 (2): 544-554.

MENG YY, XIANG W, WEN Y, et al., 2022. Correlations between leaf economics, mechanical resistance and drought tolerance across 41 cycad species[J]. Ann Bot, 130 (3): 345-354.

NIKLAS KJ. 1992. Plant biomechanics: an engineering approach to plant form and function[M]. Chicago: University of Chicago Press: 1-622.

ONODA Y, RICHARDS L, WESTOBY M. 2012. The importance of leaf cuticle for carbon economy and mechanical strength.[J]. New Phytol, 196 (2): 441-447.

ONODA Y, SCHIEVING F, ANTEN NPR. 2008. Effects of light and nutrient availability on leaf mechanical properties of *Plantago* major: A conceptual approach[J]. Ann Bot, 101 (5): 727-736.

ONODA Y, WESTOBY M, ADLER PB, et al., 2011. Global patterns of leaf mechanical properties[J]. Ecol Lett, 14 (3): 301-312.

PENG XP, LIN JF, XU JX, 2021, Study of application of different needle diameters in ultrasound-guided renal biopsy[J]. Chin Foreign Med Res, 19(34): 85-88. [彭晓枫，林建帆，许进雄，2021. 不同直径穿刺针在超声引导下肾穿刺活检中的应用研究[J]. 中外医学研究，19(34)：85-88.]

READ J, SANSON GD. 2003. Characterizing sclerophylly: the mechanical properties of a diverse range of leaf types[J]. New Phytol, 160 (1): 81-99.

ROTH-NEBELSICK A, UHL D, MOSBRUGGER V, et al., 2001. Evolution and function of leaf venation architecture: a review[J]. Ann Bot, 87 (5): 553-566.

RUEDEN CT, HINER MC, ELICEIRI KW. 2016. ImageJ: image analysis interoperability for the next generation of biological image data[J]. Microsc Microanal, 22 (S3): 2066-2067.

SALGADO-LUARTE C, GONZÁLEZ-TEUBER M, MADRIAZA K, et al., 2022. Trade-off between plant resistance and tolerance to herbivory: mechanical defenses outweigh chemical defenses[J]. Ecol, 104(1): e3860.

WANG HL, XIANG W, ZHU SD, et al., 2021. Correlation between leaf structural traits and cold resistance in *Saccharum officinarum L*. [J]. Plant Sci J, 39(6): 672-680. [王海玲，项伟，朱师丹，等，2021. 甘蔗叶片结构性状与抗寒性的关联[J]. 植物科学学报，39(6)：672-680.]

WANG YQ, NI MY, ZENG WH, et al., 2021. Co-ordination between leaf biomechanical resistance and hydraulic safety across 30 sub-tropical woody species[J]. Ann Bot, 128 (2): 183-191.

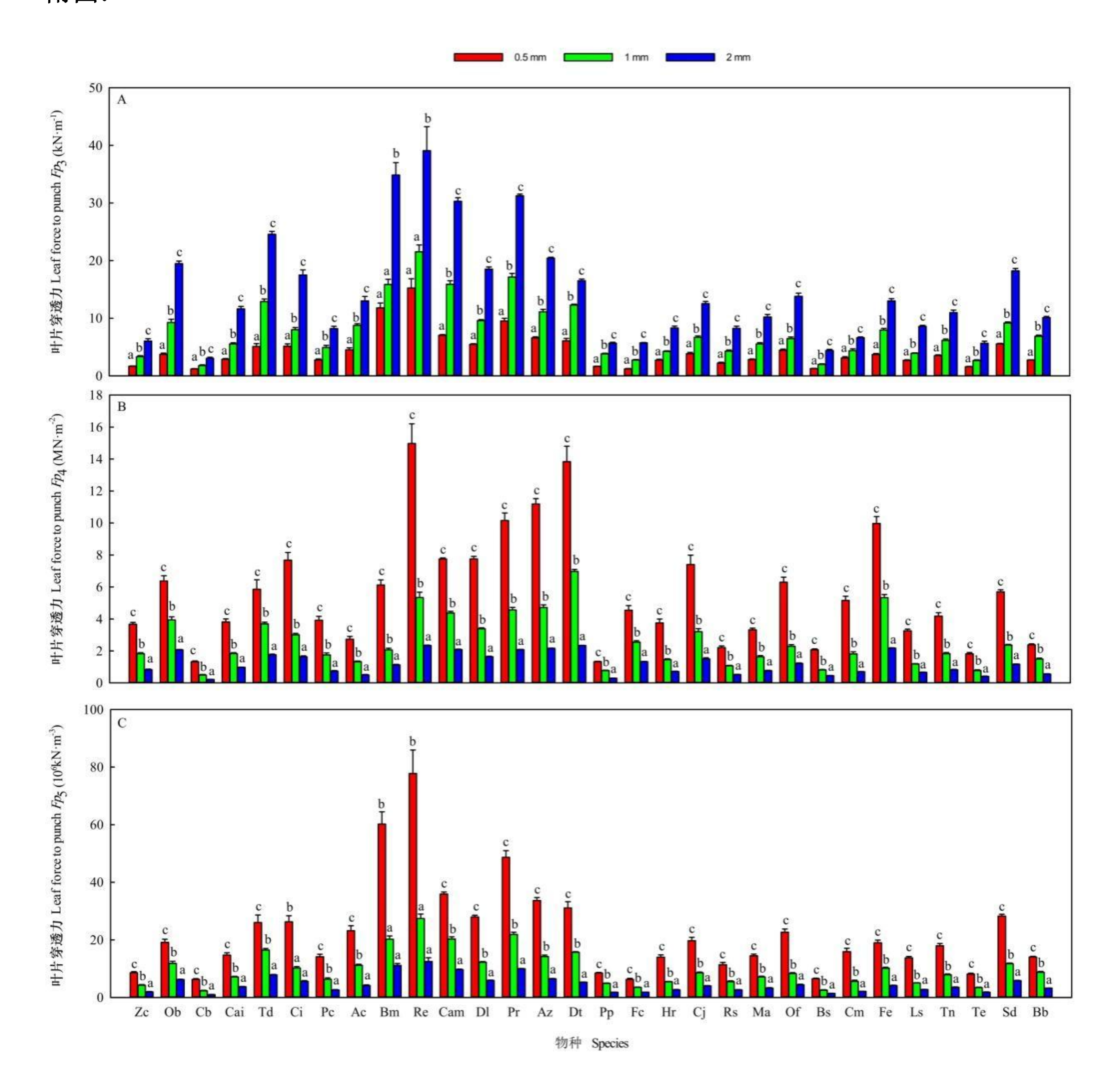
WEI Y, LIU H, HE PC, et al., 2022. Coordination between leaf construction cost and mechanical resistance of dominant woody species in subtropical forests at different successional stages[J]. J Trop Subtrop Bot, 30(4): 483-491. [韦伊，刘慧，贺鹏程，等，2022. 南亚热带不同演替阶段森林优势树种叶片构建成本与机械抗性的协同关系[J]. 热带亚热带植物学报，30(4)：483-491.]

WU YL, LI FL, HU H, et al., 2022. The structure and function of leaf veins and their influence on leaf economic spectrum[J]. Chin Bull Bot, 57(3): 388-398. [吴一苓，李芳兰，胡慧，2022. 叶脉结构与功能及其对叶片经济谱的影响[J]. 植物学报，57(3)：388-398.]

XU L, HE PC, ZHANG T, et al., 2020. Comparative studies on leaf hydraulic traits of six *Palm* (*Arecaceae*) species originally distributed in different habitats [J]. J Trop Subtrop Bot, 28(5): 472-478. [徐龙，贺鹏程，张统，等，2020. 不同原生境的6种棕榈科植物叶片水力性状的对比研究[J]. 热带亚热带植物学报，28(5)：472-478.]

ZHANG J, LI M, AO ZQ, et al., 2018. Bibliometrieal analysis of plant functional traits research based on *CNKI* from 1955-2017[J]. Jiangxi Sci, 36(2): 314-318. [张杰，李敏，敖子强，等，2018. 基于CNKI的植物功能性状研究进展文献计量分析[J]. 江西科学，36(2)：314-318.]

附图：

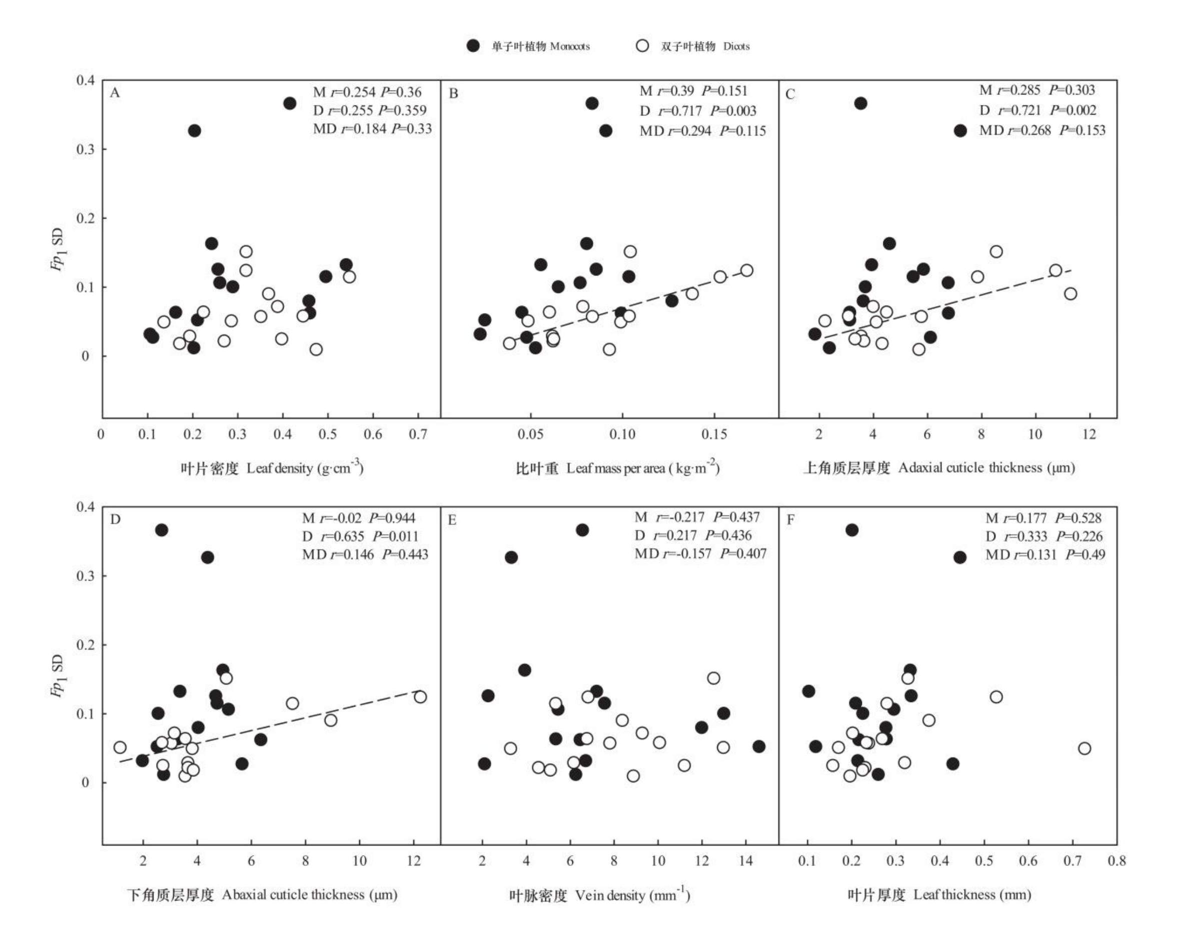


不同字母代表每个物种中不同直径穿刺针的穿透力之间差异显著（P<0.05）。

Different letters represent significant differences in the force to punch of different needle diameters (P<0.05).

附图 1　30 种植物不同校准方式下 3 种直径穿刺针的叶片穿透力差异

Attached Fig.1　Differences between the leaf force to punch based on three needle diameters and different calibration methods in 30 species

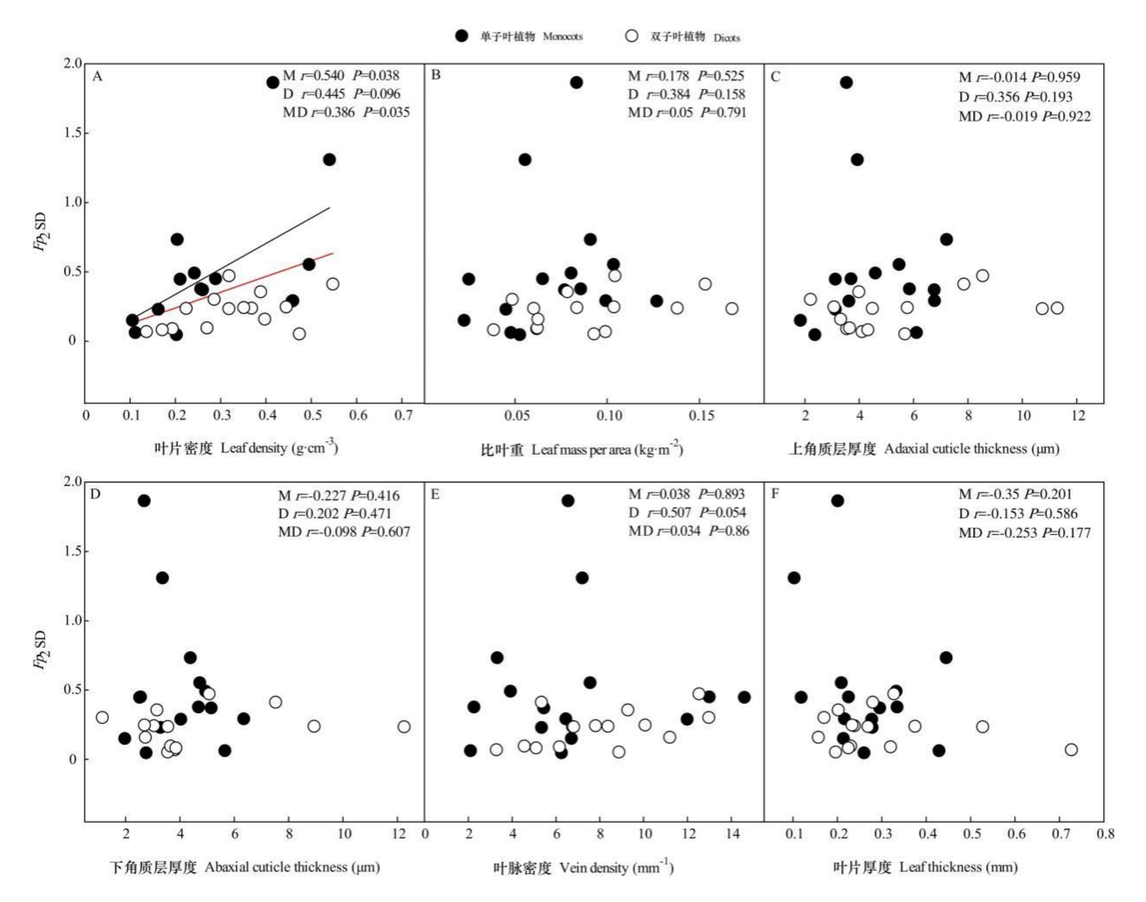


Fp$_1$ SD 表示 *Fp*$_1$ 3 种直径穿刺针叶片穿透力之间的差异。黑圆表示单子叶植物，白圆表示双子叶植物。M，D，MD 分别表示单子叶植物、双子叶植物、单子叶和双子叶 30 种植物。P<0.05 表示显著相关；P<0.01 表示极显著相关。黑色虚线为双子叶植物的相关趋势线。下同

△*Fp*$_1$ SD represents differences between the leaf force to punch of three diameters of punch needle of *Fp*$_1$. Black circles represent monocots, white circles represent dicots. M, D, and MD represent monocots, dicots and thirty species of both groups, respectively. P<0.05 represents significant correlation; P<0.01 represents highly significant correlation. The black dashed line is the associated trend line for the dicot. The same below.

附图 2　*Fp*$_1$ 3 种直径穿刺针叶片穿透力之间的差异与叶片性状的相关性分析

Attached Fig.2　Correlation between the differences in leaf force to punch of three diameters punch needle and leaf traits of *Fp*$_1$

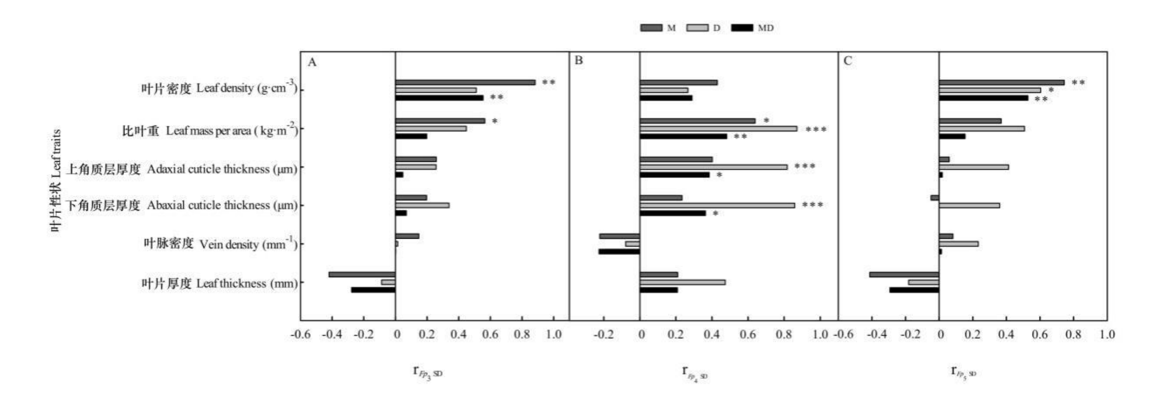


*Fp*2 SD 表示 *Fp*2 3 种直径穿刺针叶片穿透力之间的差异。黑色实线为单子叶植物的相关趋势线，红色实线为单子叶和双子叶 30 种植物的相关趋势线。

△*Fp*2 SD represents differences between the leaf force to punch of three diameters of punch needle of *Fp*2. The black solid line is the associated trend line for the monocots, and the red solid line is the associated trend line for the monocots and dicots 30 species.

附图 3 *Fp*2 3 种直径穿刺针叶片穿透力之间的差异与叶片性状的相关性分析

Attached Fig.3 Correlation between the differences in leaf force to punch of three diameters punch needle and leaf traits of *Fp*2



$r_{\triangle Fp\ SD}$表示 3 种直径穿刺针叶片穿透力之间的差异与叶片性状的皮尔逊相关值。*表示显著差异（P<0.05）；**表示极显著差异（P<0.01）；***表示极其显著相关（P<0.001）。

$r_{\triangle Fp\ SD}$ represents the Pearson correlation coefficients of the difference between the leaf force to punch of three diameters of punch needle and leaf traits. * represents significant differences(P<0.05); ** represents highly significant differences (P<0.01); *** represents extremely significant correlation (P<0.001).

附图 4　Fp_3、Fp_4、Fp_5 3 种直径穿刺针叶片穿透力之间的差异与叶片性状的相关性分析

Attached Fig.4　Correlations between three needle diameter force to punch range and leaf traits of Fp_3, Fp_4, and Fp_5